



TITLE:

# The Germ Cell Fate of Cynomolgus Monkeys is Specified in the Nascent Amnion( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Sasaki, Kotaro

---

CITATION:

Sasaki, Kotaro. The Germ Cell Fate of Cynomolgus Monkeys is Specified in the Nascent Amnion. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13112>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	佐々木 恒太郎
論文題目	The Germ Cell Fate of Cynomolgus Monkeys Is Specified in the Nascent Amnion（カニクイザル生殖細胞は初期羊膜で形成される）		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>始原生殖細胞(primordial germ cell, PGC)は次世代に遺伝情報を継承する生殖細胞系譜の源であり、その発生機構は世代を越えた生命サイクルの永続性にかかわる重要な問題である。</p> <p>近年のマウスを用いた解析により、PGC は胚体外外胚葉から分泌される BMP4 の刺激により、エピブラストから誘導されることが知られてきた。しかし、マウス以外の哺乳類における生殖細胞形成機構の解明は非常に遅れており、特に霊長類においては技術的、倫理的困難さ故に全く分かっていない。</p> <p>妊娠初期（胎齢 2－3 週）におけるヒト胚の解析は倫理的に困難であることから、本研究ではカニクイザル初期胚を霊長類のモデルとして用い、in vivo における PGC の発生機構の解析を行った。まず、技術的に単離が比較的容易であるカニクイザル胎仔(胎齢 3 6～5 5 日)の生殖巣を用いて免疫蛍光染色を行い、PGC に特異的に発現するマーカーを複数同定した。それらのマーカーを用いて、着床後胚（胎齢 1 1～2 8 日）における PGC の動態を免疫蛍光染色により解析したところ、驚くべきことに、SOX17/TFAP2C/BLIMP1 陽性の始原生殖細胞はエピブラストではなく、三胚葉分化の始まる前の胎齢 1 1 日の初期羊膜背側部において初めて誘導されることが判明した。その後、PGC は分裂増殖、もしくは羊膜後部からの新規導入を伴いつつ、胎齢 1 7 日齢までに羊膜後方より卵黄嚢に移動することがわかった。羊膜は着床後まもなく（三胚葉分化前に）エピブラストより分離することが知られている。胎齢 1 1 日の最初期の羊膜はエピブラスト同様に多能性因子である、OCT4, NANOG, SOX2 を発現しているが、その後、PGC 誘導に伴い、SOX2 発現を失い、マウスにおいて中胚葉/PGC 分化に必須な因子である T を発現することがわかった。また in situ hybridization 法により、羊膜自体が生殖細胞誘導因子である BMP4 遺伝子やその標的遺伝子である ID2 及び MSX2 を発現することから、サル PGC は羊膜の BMP4 自己分泌メカニズムにより形成される可能性が示唆された。また、マウス PGC 誘導には WNT3 の下流シグナルが必須であることが知られていることから、サル初期胚において WNT3, WNT3A の遺伝子発現を調べたところ、胎齢 1 1 日において羊膜と近接する細胞性栄養膜細胞において WNT3A の強い発現がみられ、羊膜において、その標的遺伝子である AXIN2（及び前述の T）の発現がみられたことから、細胞性栄養膜細胞由来の WNT3A が羊膜における PGC 誘導に関与している可能性が示唆された。</p> <p>さらに、初期（胎齢 1 3～2 0 日）及び後期（胎齢 3 6～5 5 日）の PGC の遺伝子発現を単一細胞遺伝子発現解析法にて網羅的に解析することで、初期、及び後期の PGC を特徴づける遺伝子セットを同定し、これらの遺伝子発現をヒト iPS 細胞から試験管内誘導したヒト始原生殖細胞様細胞（hPGCLCs）と比較することで、hPGCLCs はカニクイザルの初期 PGC と類似することが判明した。</p>			

本研究により霊長類 PGC の起源と発生から生殖巣に至るまでの動態の詳細が初めて明らかとなった。			
（論文審査の結果の要旨）			
始原生殖細胞(primordial germ cell, PGCs)は次世代に遺伝情報を継承する生殖細胞系譜の源であるが、霊長類におけるその発生機構は全く知られていない。本研究では、カニクイザル胚をモデルとして、霊長類 PGC の起源と発生様式の解明を目的とした。			
まず、21-28 日 齢 の カ ニ ク イ ザ ル 胚 の 免 疫 染 色 に よ り、SOX17/TFAP2C/BLIMP1 陽性の PGCs が後部卵黄嚢内胚葉から後腸へと取り込まれ、その後、腸間膜を経て生殖巣へと移動することが明らかとなった。さらに PGCs は胎齢 1 1 日にて羊膜の背側部にて形成された後、後部羊膜を経て、卵黄嚢へと移動することが判明した。また in situ hybridization 法による発現解析により、隣接する細胞性栄養膜細胞に発現する WNT3A や羊膜自身に発現する BMP4 のシグナルを受けて羊膜内部で PGCs が形成される可能性が示唆された。さらに、以前ヒト PGCs 形成のモデルとして報告したヒト iPS 細胞から誘導したヒト始原生殖細胞様細胞は発生直後のカニクイザル PGCs と類似する遺伝子発現パターンを有することが判明した。本研究により霊長類の生殖細胞の起源が初めて明らかとなった。			
以上の研究は、霊長類における PGCs 形成機構の解明に大きく貢献し、今後ヒトを含めた霊長類における PGCs の試験管内再構築系確立の基盤となる成果であると考えられる。			
従って、本論は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。			
なお本学位授与申請者は、平成 2 9 年 4 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降			